

Acta Medica Okayama

Volume 7, Issue 2

1942

Article 9

MÄRZ 1943

Bestimmung des isoelektrischen Punktes des Blutfibrins auf farberischem Wege.

Hakuai Seiko*

*Okayama University,

Copyright ©1999 OKAYAMA UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL. All rights reserved.

Bestimmung des isoelektrischen Punktes des Blutfibrins auf farberischem Wege.*

Hakuai Seiko

Abstract

1. Das Ergebnis der pHi-Bestimmung aus den in den Flüssigkeiten zurückgebliebenen Farbenkonzentrationen war das gleiche wie das aus den Farbungsintensitäten der Fibrinschnitte erhaltene. Das pHi betrug nämlich immer 5,9. Zu bemerken ist hierbei, daß nach unseren früheren Bestimmungen die in späteren Stadien der Entzündung vorgekommenen fibrinoiden Stoffe und das aus dem Blutplasma verschiedener Tiere ausgeschiedene Fibrin den Wert von 5,9 bzw. 6,0 aufwiesem. 2. Bei der Behandlung in Formalin erfährt das Fibrin eine Herabsetzung des pHi-Wertes. Nach 4 tagiger Behandlung erniedrigte er sich auf 5,2.

Aus dem Anatomischen Institut der Med. Fakultät Okayama
(Vorstand: Prof. K. Yagita und Prof. M. Seki).

Bestimmung des isoelektrischen Punktes des Blutfibrins auf färberischem Wege.¹⁾

Von

Hakuai Seiko.

Eingegangen am 22. April 1942.

Zur Bestimmung des isoelektrischen Punktes sind bislang verschiedene Methoden angegeben worden. Je nach der Art der Versuchsobjekte wählt man eine geeignete Methode aus. Für die kleinsten Objekte, wie die Zellen oder Zellbestandteile, ist der isoelektrische Punkt, besonders wenn man ihn in histologischen Schnitten zu bestimmen versucht, nur auf färberischem Wege ermittelbar. Nach dieser Methode kann man auch den isoelektrischen Punkt der nichtzelligen Bestandteile in Gewebsschnitten bestimmen. So konnte ich (1942 a u. b) die Veränderungen des isoelektrischen Punktes des Exsudates im Verlaufe der Entzündungen untersuchen. Nachdem ich (1942 c) in gleicher Weise Untersuchungen am Fibrin aus dem Blut verschiedener Tiere durchgeführt hatte, nahm ich Versuche an chemisch rein dargestelltem Fibrin der Firma Merck in Reagenzgläsern vor. Es handelte sich um eine Bestimmung des isoelektrischen Punktes des Fibrins aus den in den überstehenden Flüssigkeiten zurückgebliebenen Farbenkonzentrationen.

Die Resultate der pHi-Bestimmung nach dieser Methode wurden dann mit denjenigen an Schnitten verglichen.

1. Methode.

Es wurden 2 Reihen von 12 Reagenzgläsern bereitgestellt. In die Reagenzgläser wurden je 4,0 cc 0,04%iger Ponceau- usw. 0,02%iger Toluidinblaulösung eingegossen, dann in jedes Röhrchen 2,0 cc des Puffergemisches nach *Mc Ilvaine* aus sekundärem Natriumphosphat und Citronensäure (pH 3,8–8,0) und darauf schließlich je 0,4 cc

1) Ausgeführt auf Kosten des Forschungsfonds des Unterrichtsministeriums.

destillierten Wassers. Nun wurden in jedes Röhrchen 0,05 g des möglichst fein pulverisierten Fibrins zugefügt und das Ganze von Zeit zu Zeit gut geschüttelt. Etwa 24 Stunden danach wurde die Farbstärke der überstehenden Flüssigkeit mit dem Kolorimeter nach *Duboscq* bestimmt. Die Resultate wurden graphisch dargestellt. Der pH-Bereich der raschen Ab- bzw. Zunahme der Farbstärke wurde als die isoelektrische Zone des Fibrins bezeichnet.

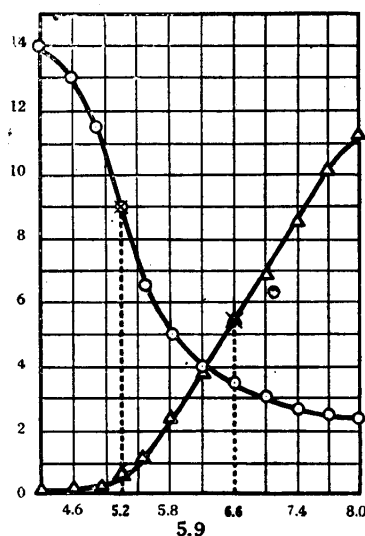
Andererseits ließ sich das Fibrin nach der Behandlung in 94%igem Alkohol (24 Stunden) bzw. in 10%igem Formalin (2, 4, 8, 16 und 32 Tage) nach dem üblichen histologischen Verfahren in Paraffin einbetten und schneiden. Über die Methode der pHi-Bestimmung in den Schnitten sehe man bei *Seiki* und *Kohasi* (1940) und *Seiki* und *Chin* (1940) nach.

Tabelle 1.

pH vor dem Zufügen des Fibrins	3,8	4,2	4,6	5,0	5,4	5,85	6,2	6,6	7,0	7,4	7,8	8,0
Endgültiges pH	4,2	4,6	4,9	5,2	5,5	5,85	6,2	6,6	7,0	7,4	7,8	8,0
Farbstärke { Ponceaulösung	0	0,1	0,2	0,5	1,2	2,4	3,7	5,5	6,8	8,5	10,2	11,3
{ Tolidinblaulösung	14,0	13,0	11,5	8,9	6,5	5,0	3,9	3,5	3,1	2,7	2,5	2,3
Niedergeschlagenes Fibrin (cc)	2,05	2,10	2,05	1,95	1,90	1,85	1,90	2,10	2,30	2,40	2,45	2,45

2. Resultate.

Die Resultate der Versuche in den Reagenzgläsern sind in Tabelle 1 angegeben. Zur besseren Übersicht mag die folgende graphische Darstellung dienen. Daraus er-



gibt sich, daß der isoelektrische Punkt des Fibrins bei pH 5,9 liegt. Auch das Volumen des niedergeschlagenen Fibrins ist bei pH von 5,85 (genauer vielleicht bei 5,9) am kleinsten.

Die Resultate der pHi-Bestimmung des Fibrins in den Schnitten sind in folgender

Tabelle zusammengestellt. Das im Alkohol behandelte Fibrin weist pHi von 5,9 auf, was mit dem durch die Färbung im Reagenzglas erhaltenen Wert vollständig übereinstimmt. Aber das im Formalin behandelte Fibrin erfährt eine Erniedrigung des Wertes: bei 2 tägiger Behandlung beträgt sein Wert 5,4, bei 4 tägiger ist er noch niedriger, 5,2. Bei weiterer Behandlung ist jedoch keine Verminderung mehr zu bemerken.

Tabelle 2.

Material	pHi
Alkoholbehandlung 1 Tag	5,9
Formalinbehandlung 2 Tage	5,4
" 4 Tage	5,2
" 8 Tage	5,2
" 16 Tage	5,2
" 32 Tage	5,1

3. Zusammenfassung.

1. Das Ergebnis der pHi-Bestimmung aus den in den Flüssigkeiten zurückgebliebenen Farbenkonzentrationen war das gleiche wie das aus den Färbungsintensitäten der Fibrinschnitte erhaltene. Das pHi betrug nämlich immer 5,9. Zu bemerken ist hierbei, daß nach unseren früheren Bestimmungen die in späteren Stadien der Entzündung vorgekommenen fibrinoiden Stoffe und das aus dem Blutplasma verschiedener Tiere ausgeschiedene Fibrin den Wert von 5,9 bzw. 6,0 aufwiesem.

2. Bei der Behandlung in Formalin erfährt das Fibrin eine Herabsetzung des pHi-Wertes. Nach 4 tägiger Behandlung erniedrigte er sich auf 5,2.

Literaturverzeichnis.

Seki, M. u. Y. Kohasi, Bestimmung des isoelektrischen Punktes der Gewebselemente auf färberischem Wege. I. Okajimas Fol. anat. jap. 19 (1940). — Seki, M. u. K. Chin, Bestimmung des isoelektrischen Punktes der Gewebselemente auf färberischem Wege. II. Okajimas Fol. anat. jap. 19 (1940). — Seiko, H., Über die Veränderung des isoelektrischen Punktes der nichtzelligen Bestandteile des Exsudates bei Entzündungen. I. Jap. J. of med. Sci. Anat. 9 (1942 a). — Derselbe, Über die Veränderung des isoelektrischen Punktes der nichtzelligen Bestandteile des Exsudates bei Entzündungen. II. Arb. Med. Fak. Okayama 7 (1942 b). — Derselbe, Isoelektrischer Punkt der mit Alkohol fixierbaren Substanzen des Blutplasmas von verschiedenen Tieren. Kaibô Z. 20 (1942). (Jap.)